

RELATIONSHIP WITH BEFORE AND AFTER OPERATION OF NECK LYMPHNODE TUBERCULOSIS ON CELL MEDIATED IMMUNITY

Tetsuo Takeda, Ichiro Furuuchi, Kotaro Baba.

Department of Otorhinolaryngology, Dokkyo University School of Medicine

Yoshiyasu Kiya.

Department of clinical reserch center, Dokkyo University School of Medicine

A 68-year-old woman with left neck lymphnode tuberculosis was surgically resected.

Before and after surgical operation, cell mediated immunity was measured by below 4 items.

1. Delayed type skin test (PPD, PHA, Candida)
2. T cell subsets (FACS analysis used by monoclonal antibody)

3. Lymphocyte blastoid transformation.

4. Lymphokines activity (macrophage migration inhibitory test)

The cell mediated immunity was highly advanced.

But significant change, between before and after surgery, could not found.

結核性頸部リンパ節炎患者の術前後の細胞性免疫能

獨協医科大学耳鼻咽喉科学教室（主任：古内一郎教授）

武田 哲男・古内 一郎・馬場 廣太郎

同大共同研究室

木谷 孔保

はじめに

結核菌における一次感染症では、宿主にある程度の抵抗力が生じ、この抵抗力が細胞性免疫によっている事は既に知られている。そのため、細胞性免疫能の検査が結核菌感染症の診断、治療、予防において広く利用されてきた。

ところで、結核症は治療法の発達、感染原の隔離、免疫学的な予防法の進歩などにより

年間発症率は急速に低下してきている。

耳鼻咽喉科領域における結核症では、頸部リンパ節結核として、みることができる。本疾患の発症年齢は、若年者に少なくまれであるが、むしろ、高年齢層の既感染者にみられる。

今回我々は、高年齢者にみられた結核性頸部リンパ節炎患者の、手術前後における細胞性免疫能について検討し得たので報告する。

症例および検査項目

症例は、68才女性の左結核性頸部リンパ節炎患者で、主訴は左頸部腫瘤で発熱などの全身症状は認められなかった。なお検査の施行は、手術前1週間と頸部リンパ節摘出術ならびに郭清術施行約6ヶ月後に行なった。

検査項目は、T細胞系の機能を測定した(表1)。表の1番上の遅延型皮膚アレルギー反応は、in vivoの検査であるが、ほかの3項目は、in vitroの検査であった。

表1 細胞性免疫能検査

1. 遅延型皮膚アレルギー反応
 - ・ PHA皮膚反応
 - ・ PPD皮膚反応
 - ・ カンジダ抗原皮膚反応
2. T細胞 Subsetの測定
 - ・ T cell
 - ・ Helper T cell
 - ・ Suppressor T cell
3. リンパ球芽球化反応
 - ・ PHA
 - ・ ConA
4. Lymphokines 活性の判定
 - ・ マクロファージ遊走阻止試験

方法および結果

1). 遅延型皮膚アレルギー反応は、前腕屈側にPHAは5 μ g, PPDは日本BCG社製精製ツベルクリンを、カンジダは島居薬品の1万倍カンジダエキスを用い、それぞれ0.1¹⁾ml皮内注射し48時間後に判定した。判定方法は、各々の抗原による判定基準にそった。

結果は、術前1週間と術後6ヶ月の皮膚反応には特に差異が認められず、PHA, PPDには陽性を示したが、カンジダ抗原には陰性であった。(Table 1)

2). Tリンパ球subsetは、モノクローナル抗

Table 1 Delayed type skin test

	Pre operation	Post operation
PHA	(++)	(++)
PPD	(+++)	(+++)
Candida	(-)	(-)

Table 2 T cell subsets

FACS analysis used by monoclonal antibody

	Pre operation	Post operation
Leu 4 (pan T)	60.2%	53.2%
Leu 3a (helper/inducer T)	41.6%	38.3%
Leu 2a (cytotoxic/Suppressor T)	15.4%	12.9%
Ratio Leu 3a/Leu 2a	2.71	2.97

体を用いて蛍光抗体直接法により染色し、FACSにて解析した。²⁾使用したモノクローナル抗体は、Leu 4, Leu 3a, Leu 2aでそれぞれ、Pan T cell, Helper又はInducer T cell, Cytotoxic又はSuppressor T cellを示す。その結果、術前1週間と術後6ヶ月のLeu 4, Leu 3a, Leu 2aのT細胞表面抗原陽性細胞数は、すべて正常範囲内にあり、最近その診断的価値が高まってきたLeu 3a/Leu 2a³⁾比も、術前2.71、術後2.97と正常値を示した。(Table 2)

3). リンパ球芽球化反応は、Mitogen 刺激による非特異的幼若化反応を検査した。PHA, Con Aを20 μ l, リンパ球を1 \times 10⁵個/200 μ lに調製し、同時にマイクロプレートに加え5%CO₂培養器で72時間培養後、³H-サイミジンを加えさらに18時間培養後Cell harvestし液体シンチレーションカウンターで測定した。実験は、triplicateで行ない、芽球化反応の程度は、刺激細胞と非刺激細胞の³H-サイミジンの取り込み量cpmをStimulation Indexにて示した。⁴⁾結果は、手術前と手術後6ヶ月の間には、変化が認められなかったが、PHA, Con A

ともに Stimulation Index は比較的高値を示した。(Table 3)

Table 3 Lymphocyte blastoid transformation
measurement by liquid scintillation counter

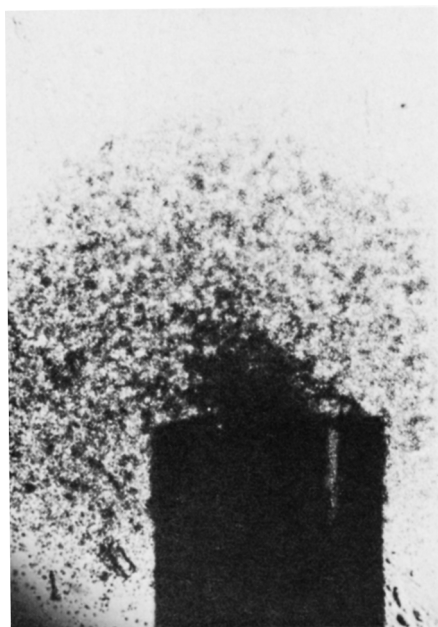
$$\text{Stimulation Index (SI)} = \frac{\text{Mitogen stimulation cpm}}{\text{Mitogen free cpm}}$$

(SI)	Pre operation	Post operation
PHA	53.1	49.2
ConA	48.7	47.8

4). Lymphokines活性の測定には、マクロファージ遊走阻止因子の測定法である Macrophage migration inhibitory test^{5) 6)} を行った。マクロファージは、モルモットの腹腔内に流動パラフィンを注射し、3日目の腹腔滲出液を採取し用いた。MIF含有リンパ球上清は、抗原添加としてPPDを用いた。測定は、Lymphokine (+)の培養液と Lymphokine (-)の培養液でMacrophageを48時間培養し、毛細管よりの遊走を距離法により判定した。(Fig 1)

結果は、手術前1週間、手術後6ヶ月ともに30%前後の遊走阻止が認められ、両者の差ははっきりしなかった。(Table 4)

Fig 1 Migration Inhibition Test 48hr incubation.



Antigen free



Antigen added

Table 4 Lymphokines activity
Macrophage migration inhibition test

$$\text{Migration Index (MI)} = \frac{\text{Migration distance of antigen free}}{\text{Migration distance of added antigen}} \times 100\%$$

(MI)	Pre operation	Post operation
PPD	32	26

考 察

我々は、結核性頸部リンパ節炎患者の細胞性免疫能を、感染力の強い時期(術前1週間)と感染力が弱く落ちついた時期(術後6ヶ月)に調べることにより、結核菌感染力の差異に細胞性免疫能がどのように変化しているのか

検討したが、両時期にはいずれの検査にも有意差が認められなかった。すなわち、今回の測定結果からは結核症の病期と、細胞性免疫能との間には、はっきりした関係がない様に思われた。しかし、術前術後とも遅延型皮膚アレルギー反応、リンパ球芽球化反応、Lymphokine活性は、正常者平均値と比較すると高値を示し、細胞性免疫能が亢進している状態であった。今回の検討では、T細胞系の免疫能検査4項目のみ行なったが、これらが完全に免疫状態を反映するものではなく、他の細胞性免疫能検査も今後、進めてゆく必要がある様に思われた。

む す び

68才女性の左結核性頸部リンパ節炎と病理学的に診断された症例を対象にして、頸部リンパ節摘出術及び郭清手術施行前後の細胞性免疫能(PPD, PHA, Candida の遅延型皮内反応, T-cell Subsets, リンパ球芽球化反応, マクロファージ遊走阻止試験)の検査を行なった。その結果、細胞性免疫能の亢進がみられたが、術前後ではあきらかな変動は、みられなかった。

参 考 文 献

- 1) 亀井秀雄他：PHAとPPD 皮内反応の相関性について。
癌と化学療法, 5(補1), 199~200, 1978.
- 2) Herzenberg L.A. et al : Fluorescence activated cell sorting. Scientific American 234, 107~108, 1976.
- 3) 長沖武他：ウィルス感染症とT細胞サブセット, 臨床免疫15(12) : 950~957, 1983
- 4) 矢田純一他：リンパ球機能検査法 78~88, 中外医学社, 1983.
- 5) Eleanor A. L. et al : Delayed hypersensitivity. III Effect of pre-exposure to antigen upon macrophage migration, J. Immunology, 102, 1074~1078, 1969.
- 6) 高橋廣臣他：頭頸部悪性腫瘍における細胞性免疫能について, 耳喉, 48, 391~396, 1976.
- 7) 古内一郎：鼻アレルギーの臨床, 49~52, 新興医学出版, 1984

質 疑 応 答

質問 熊沢忠躬 (関西医大)

結核性頸部リンパ節炎を研究対象にした理由は。

応答 武田哲男 (独協医大)

結核菌感染症と細胞性免疫能との関係は、以前より論議されている問題であり、他の感染症と比較し、免疫の関与する割合が多いと思われる為。